植物精油与丁酸钠的协同体外抑菌效果研究

韩乾杰[1]　张玲玲[1]　陈　敏[2]　李　慧[2]　范小燕[2]　杨彩梅[1,2*]

（1.浙江农林大学动物科技学院，临安 313000；2.浙江万方生物科技有限公司，安吉 313307）

摘　要：本试验旨在研究植物精油与丁酸钠的体外斜体抑菌效果。采用牛津杯法，测定肉桂醛、百里香酚和香兰素对于4种细菌（大肠杆菌、沙门氏菌、产气荚膜梭菌、乳酸菌）的抑菌效果。并将单方和复合植物精油分别与丁酸钠复配，测定其抑菌效果。结果表明：3种植物精油均对大肠杆菌、沙门氏菌、产气荚膜梭菌有明显抑制作用，但对乳酸菌无抑制作用，在相同浓度下，抑菌效果为肉桂醛>香兰素>百里香酚。肉桂醛与香兰素复合植物精油抑菌效果优于单方植物精油，当肉桂醛与香兰素的质量比为6:1时抑菌效果最佳。丁酸钠没有显示出抑菌作用，但丁酸钠与植物精油复合可明显降低植物精油的使用量。综上所述，不同植物精油的复合具有协同作用，植物精油和丁酸钠之间也存在着协同作用。

关键词：植物精油；丁酸钠；协同抑菌效果；最小抑菌浓度

中图分类号：S482.2;TQ455　　文献标识码：A　文章编号：

抗生素由于药物的残留、病原菌的耐药性等问题而逐渐被限制在饲料中使用。因此，寻找绿色安全的抗生素替代物成为当前动物营养研究的热点。Fang 等[1]报道，将 1 g/kg 刺五加精油添加到21日龄断奶仔猪的饲粮中，仔猪肠道大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的密度显著降低。Michiel 等[2]研究表明，百里香酚能够显著提高仔猪空肠和盲肠中乳酸杆菌的数量，降低空肠中的厌氧菌、梭菌和链球菌的数量。丁酸钠在维持细胞的分化和结肠上皮的完整性、提高动物生产性能方面发挥着重要作用。Kotunia 等[3]在3日龄仔猪人工乳中加入丁酸钠，发现丁酸钠使空肠和回肠绒毛长度和黏膜厚度增加。Manzanilla 等[4]研究表明，

收稿日期：2016-07-28

基金项目：浙江省“饲料研发与安全科技创新团队”项目（2011R50025）；浙江农林大学人才项目（2034020001）

作者简介：韩乾杰（1993—），男，浙江宁波人，硕士研究生，动物科学专业。E-mail: 373797557@qq.com

*通信作者：杨彩梅，副教授，硕士生导师，E-mail: yangcaimei2012@163.com

饲粮中添加丁酸钠可以增加断奶仔猪回肠杯状细胞的数量。李丹丹等[5]研究表明，饲粮中添加丁酸钠能促进断奶仔猪的生长和免疫器官发育，提高血清免疫球蛋白的含量，刺激机体肠道黏膜分泌免疫球蛋白 A，提高其免疫功能。王纯刚等[6]研究发现，在饲粮中添加丁酸钠可减少仔猪受轮状病毒感染的应激反应。植物精油具有抑菌效果，可抑制肠道致病菌的增殖，进而促进动物健康生长。目前对于植物精油、丁酸盐的研究大多是对其单一特性的分析，而对于植物精油与丁酸盐的协同作用方面的研究相对较少。本试验通过体外抑菌试验寻求抑菌效果最好的植物精油，并且研究植物精油与丁酸钠的协同作用，旨在为进一步开发新型绿色饲料添加剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

肉桂醛（淡黄色液体）、百里香酚（无色半透明结晶）、香兰素（白色粉末）、丁酸钠（白色粉末），均由浙江万方生物科技有限公司提供，试验前置于 4 ℃冰箱、避光条件下保存。

大肠杆菌（ATCC 25922）、沙门氏菌（CICC 21913）、产气荚膜梭菌（ATCC13124）均购自广东省菌种保藏中心、，乳酸杆菌（ATCC 7469ATCC 25922），购自不同的菌种保藏中心。中国菌种保藏中心。

1.2 试验设计

1.2.1 抑菌试验

抑菌试验采用牛津杯法。培养基表面放 5 个灭菌牛津杯，分别加入 3 种精油（百里香酚、肉桂醛、香兰素，16 mg/mL），并加入 95%乙醇做空白对照，加入硫酸黏杆菌素（1 280 μg/mL）做阳性对照。每个菌种做 3 个平行，放入 37 ℃的生化培养箱中培养 24 h。

1.2.2 最低抑菌浓度（minimal inhibitory concentration，MIC）及复合植物精油抑菌试验

通过牛津杯筛选获得初步抑菌效果较佳的植物精油，采用梯度稀释法测定植物精油的 MIC。

复合植物精油由肉桂醛和香兰素组成，抑菌试验中肉桂醛和香兰素按梯度比例（6:1、4:1、2:1、1:1、1:2、1:4、1:6，质量比）进行复合制剂的配制，并寻求最佳的比例。

1.2.3 植物精油与丁酸钠的协同抑菌试验

按照 1.2.1 的试验方法，在灭菌牛津杯分别加入植物精油（16 mg/mL）、丁酸钠溶液（2.2

带格式的
带格式的：字体：Times New Roman
带格式的
带格式的：字体：Times New Roman
带格式的：字体：Times New Roman
带格式的：字体：Times New Roman
带格式的：字体：Times New Roman

mg/mL）、植物精油+丁酸钠（1:1，质量比），并以 95%乙醇做空白对照，以硫酸黏杆菌素（1 280 μg/mL）做阳性对照。每个菌种做 3 个平行，然后放入 37 ℃的生化培养箱中恒温培养 24 h。

2 结果与分析

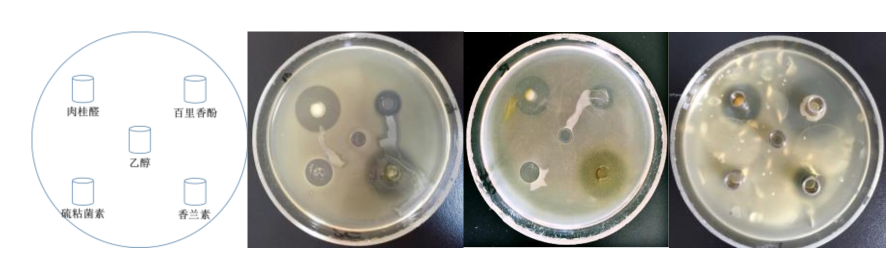
2.1 3 种植物精油单独抑菌效果

由表 1 和图 1 所示，肉桂醛和香兰素对大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜梭菌都有很强的抑制作用。此外，硫酸黏杆菌素是肠道细菌敏感的抗生素之一，对于大肠杆菌、沙门氏菌和乳酸菌都具有敏感性，可抑制其增殖。

表 1 3 种植物精油对细菌的抑菌圈直径

Table 1 Antibacterial circle diameters of three kinds of plant essential oils on bacteria mm

项目 Items	大肠杆菌 *Escherichia coli*	沙门氏菌 *Salmonella*	产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*	乳酸菌 *Lactobacillus*
百里香酚 Thymol	13.61±0.48	13.81±0.87	21.43±3.02	无
肉桂醛 Cinnamaldehyde	22.53±0.75	17.56±0.26	14.22±1.23	无
香兰素 Vanillin	22.30±0.59	18.40±0.87	11.01±2.84	无
硫酸黏杆菌素 Tiamulin	15.24±0.04	10.03±0.21	无	15.96±0.64
乙醇 Alcohol	无	无	无	无



大肠杆菌 *Escherichia coli*　　沙门氏菌 *Salmonella*　　产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*

图 1　3 种植物精油单独抑菌效果

Fig.1　Single bacteriostatic effect of three kinds of plant essential oils

2.2　植物精油与丁酸钠的协同抑菌效果

由表 2 和图 2 所示，肉桂醛、肉桂醛与丁酸钠 1:1 混合对大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜梭菌的抑制效果大致相同，表明丁酸钠与植物精油复配可以减少至少 50%的精油用量。

表 2　肉桂醛和肉桂醛与丁酸钠混合物对细菌的抑菌圈直径

Table 2　Antibacterial circle diameters of cinnamaldehyde and mixture of cinnamaldehyde and sodium butyrate on bacteria　　mm

项目 Items	大肠杆菌 *Escherichia coli*	沙门氏菌 *Salmonella*	产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*
肉桂醛 Cinnamaldehyde	27.57±0.60	25.62±0.71	20.24±0.98
丁酸钠 Sodium butyrate	无	无	无
肉桂醛+丁酸钠 Cinnamaldehyde+sodium butyrate (1:1)	28.72±1.20	26.83±0.24	18.85±0.30
硫酸黏菌素 Tiamuli	17.11±0.65	13.13±0.32	无
乙醇 Alcohol	无	无	无

肉桂醛　丁酸钠　乙醇　硫粘菌素　肉桂醛+丁酸钠

大肠杆菌 *Escherichia coli*　沙门氏菌 *Salmonella*　产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*

图 2　植物精油与丁酸钠的协同抑菌效果

Fig.2　Synergistic bacteriostatic effect of plant essential oil and sodium butyrate

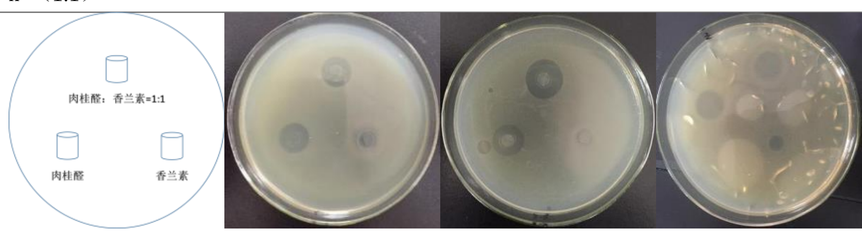
2.3　不同植物精油的 MIC

由表 3 和图 3 所示，肉桂醛对产气夹膜梭菌的抑菌作用最强，其次为沙门氏菌，对大肠杆菌的的最低抑菌浓度为 312.50 μg/mL；香兰素对产气夹膜梭菌的抑菌作用较强，对大肠杆菌和沙门氏菌的最低抑菌浓度均为 625.00 μg/mL。肉桂醛与香兰素 1:1 复合时的抑菌效果优于单独使用香兰素。

表 3　不同植物精粬的最低抑菌浓度

Table 3　MIC of different plant essential oils　　μg/mL

项目 Items	大肠杆菌 *Escherichia coli*	沙门氏菌 *Salmonella*	产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*
肉桂醛 Cinnamaldehyde	312.50	156.20	39.12
香兰素 Vanillin	625.00	625.00	156.25
肉桂醛+香兰素 Cinnamaldehyde+vanillin （1:1）	312.50	156.25	39.12



大肠杆菌 *Escherichia coli*　沙门氏菌 *Salmonella*　产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*

图 3　不同植物精粬的最低抑菌浓度
Fig.3　MIC of different plant essential oils

2.4　复合植物精油的 MIC

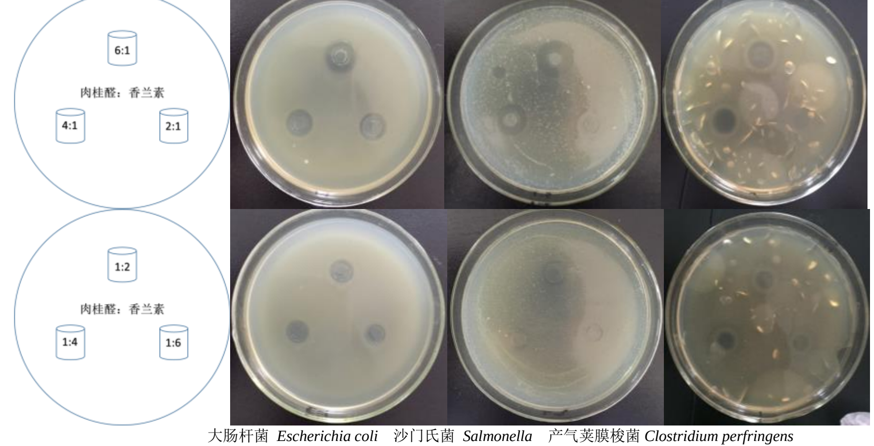
由表 4 和图 4 所示，在复合植物精油中，抑菌作用最强的是肉桂醛与香兰素 6:1 的配比，肉桂醛所占比例越大，抑菌效果越佳。

表 4　复合植物精油的最小抑菌浓度

Table 4　MIC of compound plant essential oils　　μg/mL

肉桂醛和香兰素的质量比	大肠杆菌	沙门氏菌	产气荚膜梭菌

The mass ratio of cinnamaldehyde and vanillin	*Escherichia coli*	*Salmonella*	*Clostridium perfringens*
6:1	39.06	19.53	19.53
4:1	78.12	39.06	19.53
2:1	78.12	78.12	39.06
1:1	312.50	156.25	39.06
1:2	156.25	156.25	78.12
1:4	312.25	156.25	78.12
1:6	312.25	312.25	78.12



大肠杆菌 *Escherichia coli* 沙门氏菌 *Salmonella* 产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*

图 4 复合植物精油的最小抑菌浓度

Fig.4 MIC of compound plant essential oils

2.5 复合植物精油与丁酸钠的协同抑菌效果

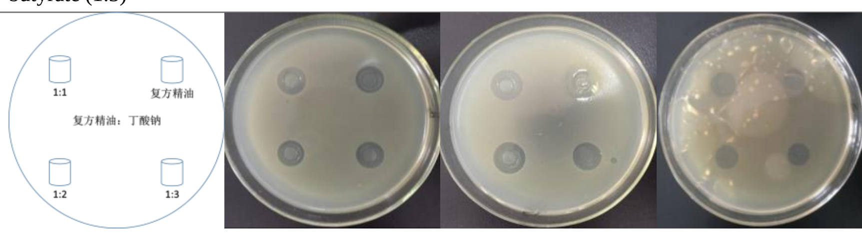
由表 5 和图 5 所示，肉桂醛与香兰素的复合植物精油和复合植物精油与丁酸钠 1:1、1:2、1:3 混合物对大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜梭菌的抑制效果大致相同，表明复合植物精油和丁酸钠之间也存在协同作用，在保持相同抑菌效果的前提下，丁酸钠能够减少 75%的复合植物精油的使用量。

表 5 复合植物精油与丁酸钠的混合物对细菌的抑菌圈直径

Table 5 Antibacterial circle diameters of the mixture of compound plant essential oil and sodium

butyrate on bacteria mm

项目 Items	大肠杆菌 *Escherichia coli*	沙门氏菌 *Salmonella*	产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*
复合植物精油 Compound essential oils	10.5±0.47	13.73±0.98	11.22±0.11
复合植物精油+丁酸钠 Compound essential oils+sodium butyrate (1:1)	11.3±0.32	14.13±1.23	12.73±0.53
复合植物精油+丁酸钠 Compound essential oils+sodium butyrate (1:2)	10.8±0.67	13.99±0.73	11.49±0.55
复合植物精油+丁酸钠 Compound essential oils+sodium butyrate (1:3)	9.99±1.23	13.13±0.08	10.93±1.37



大肠杆菌 *Escherichia coli* 沙门氏菌 *Salmonella* 产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens*

图 5 复合植物精油与丁酸钠的协同抑菌效果

Fig.5 Synergistic bacteriostatic effect of compound plant essential oil and sodium butyrate

3 讨 论

某些植物精油具有较强的抑菌效果已经被很多报道和研究所证实，汪中兴等[7]检测了 3 种可饲植物精油（肉桂油、牛至油和百里香油）在一定配比下对猪源产肠毒素大肠杆菌 K88 和霍乱沙门菌 A72 的体外抑菌作用，结果表明抑菌效果为：肉桂油>牛至油>百里香油。张赟彬等[8]通过对植物精油的主要化学成分进行分析总结，发现许多植物精油的成分中包含苯

环或者共轭双键结构，例如肉桂醛、香兰素以及柠檬醛等，这种结构通过结合微生物细胞膜表面的离子通道蛋白，从而改变细胞膜的通透性，加速菌体代谢致使细菌死亡。本试验的研究结果发现肉桂醛表现出很强的抑菌作用，香兰素的抑菌作用次之，百里香酚最弱。

现有对于植物精油的协同性的研究大致体现在 2 个方面，其中一方面为不同中文精油之间的协同。复合中文精油由于含有不同组分，能够多途径、多靶位发挥协同效应，整体的作用效果一定程度上强于单方植物精油。Imming 等[9]枚举了植物精油进入机体后其所有可能的靶作用点，其中有代谢酶、基质、转运载体、蛋白质、受体、细胞因子、DNA/RNA 等。Galindo 等[10]研究发现，中文精油中的多酚类物质，虽然其本身的物理特性较为模糊，却能够通过提高主要活性物质的溶解度和吸收率来增强整体的作用效果。而醛类物质，能够穿透细胞膜，与细胞质内的蛋白质结合，从而抑制关键酶的活性，达到抑菌的效果[11]。例如，Roldán-Gutiérrez 等[12]的研究发现植物精油的复合效应能够抵抗大多数致病细菌，如单增李斯特菌，这种菌对所有单一植物精油都有一定的耐受性，复合植物精油能够更好地抑制其生长，同时多种植物精油复合可以减少植物精油的添加量，并增强其抑菌效果。Bassolé 等[13]研究表明，相比于单独使用香芹酚（瓦解细胞外膜）和百里香酚（结合菌体蛋白）的抑菌效果，综合了两者的野蔷薇精油的抑菌效果更佳。Bozkurt 等[14]研究发现，将含有香芹酚、百里酚、桉树脑和柠檬烯的植物精油混合物添加到蛋鸡的基础饲粮中，能够有效缓解应激，降低死亡率。Arczewska-Wlosek 等[15]指出，混合植物精油（含百里香酚、大蒜精）能够缓解肉鸡染艾美尔球虫病的病情。Rahimi 等[16]研究发现，百里香酚、紫雏菊和大蒜精油的混合物可显著减少肉仔鸡回肠、盲肠中大肠杆菌的数量。目前发现的植物精油中有协同增效作用的成分很多，常见的复配组合有肉桂醛和香兰素、紫苏醛和蓼二醛等，通过复配都可以降低各自的 MIC[17]。植物精油在动物肠道健康的保健和治疗上的应用更为常见，刘容珍等[18]认为选对合适的植物精油组合，可以用最少的剂量达到最大的收益，同时能够减轻或消除潜在的副作用。因此，研究植物精油及其主要成分之间抑菌作用的协同性有着重要的科学意义。本试验首次发现肉桂醛和香兰素的配比为 6:1 时对大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜梭菌的抑制效果最强。

植物精油的协同性研究的另一方面是将复合植物精油和其他抑菌物质联用，从而提高其抑菌活性。Bassolé 等[13]在野蔷薇精油中发现除主要抑菌物质（香芹酚和百里香酚）外，薄

荷酮、桉树脑等也在强化整体的抑菌效果。王继凤等[19]发现，丁酸钠在一定程度上，在不影响抑菌效果的作用下，能够减少一部分抗生素的用量，且与抗生素存在协同效应。王帆等[20]的体外试验表明，复合中文精油与单宁酸进行复配能够对 5 种常见致病菌（金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肠炎沙门氏菌和单增李斯特菌）均产生较强的抑制作用，且复配后各成分的 MIC 都有降低。找到合适的配比，能够使得复合植物精油的抗菌活性增强，并且能够减少的精油的使用量。李凯年[21]研究发现，饲料添加剂 Natesse（含有丁酸钠和组合精油）可以减少肉鸡卵囊的排泄。齐胜利等[22]的研究认为，在植物精油中添加丁酸有助于增强植物精油中活性成分的抗菌作用。Jerzsele 等[23]试验也表明，在肉鸡的饲粮中添加香精油或者是丁酸钠与植物精油的混合物后小肠绒毛长度/隐窝深度值得到极其显著提高，并且产气荚膜梭菌的数量显著减少。本试验结果表明，复合植物精油和丁酸钠之间存在协同作用，丁酸钠的加入能够减少 75%的复合植物精油（肉桂醛与香兰素以 6:1 的质量比复合）的使用量，同时淡化了植物精油的浓郁气味。

4 结　论

肉桂醛和香兰素组成的复合植物精油对大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜梭菌的抑制作用比单方植物精油更强，2 种单方植物精油之间存在协同效应，最适配比为 6:1。丁酸钠与植物精油之间存在协同作用，并且能够减少 75%的复合植物精油（肉桂醛与香兰素以 6:1 的质量比复合）的使用量。

参考文献：

[1] FANG J,YAN F Y,KONG X F,et al.Dietary supplementation with *Acanthopanax senticosus* extract enhances gut health in weanling piglets[J].Livestock Science,2009,123(2/3):268–275.

[2] MICHIELS J,MISSOTTEN J A M,FREMAUT D,et al.*In vitro* characterisation of the antimicrobial activity of selected essential oil components and binary combinations against the pig gut flora[J].Animal Feed Science and Technology,2009,151(1/2):111–127.

[3] KOTUNIA A,WOLINSKI J,LAUBITZ D,et al.Effect of sodium butyrate on the small intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow[J].Journal of Physiology and Pharmacology,2004,55(Suppl.2):59–68.

[4] MANZANILLA E G,NOFRARÍAS M,ANGUITA M,et al.Effects of butyrate,avilamycin,and

a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs[J].Journal of Animal Science,2006,84(10):2743–2751.

[5] 李丹丹,冯国强,钮海华,等.丁酸钠对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响[J].动物营养学报,2012,24(2):307–313.

[6] 王纯刚.鱼粉与丁酸钠对断奶仔猪生长、肠道发育和胰高血糖素样肽-2 的影响[D].硕士学位论文.雅安：四川农业大学,2009.

[7] 汪中兴,侯永清,窦茂鑫,等.3 种饲用植物精油及其主要成分对猪源致病菌的抑菌作用研究[J].饲料研究,2014(13):42–45.

[8] 张赟彬,郭媛.香辛料精油抑菌机理研究进展及其在食品保藏中的应用[J].中国调味品,2011,36(7):4–10.

[9] IMMING P,SINNING C,MEYER A.Drugs,their targets and the nature and number of drug targets[J].Nature Reviews Drug Discovery,2006,5(10):821–834.

[10] GALINDO L A,DE MORAES PULTRIN A,COSTA M.Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil[J].Journal of Natural Medicines,2010,64(4):436–441.

[11] BENTO M H L,OUWEHAND A C,TIIHONEN K,et al.Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals-effects on feed quality,gut microbiota,growth performance and food safety:a review[J].Veterinarni Medicina,2013,58(9):449–458.

[12] ROLDÁN-GUTIÉRREZ J M,RUIZ-JUMÉNEZ J,LUQUE DE CASTRO M D.Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction[J].Talanta,2008,75(5):1369–1375.

[13] BASSOLÉ I H N,LAMIEN-MEDA A,BAYALA B,et al.Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora Moldenke*,*Mentha* x *piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination[J].Molecules,2010,15(11):7825–7839.

[14] BOZKURT M,KÜÇÜKYILMAZ K,ÇATLI A U,et al.Performance,egg quality,and immune

response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions[J].Poultry Science,2012,91(6):1379–1386.

[15] ARCZEWSKA-WLOSEK A,WIATKIEWICZ S.The effect of a dietary herbal extract blend on the performance of broilers challenged with *Eimeria* Oocysts[J].Journal of Animal and Feed Sciences,2012,21(1):133–142.

[16] RAHIMI S,TEYMOURI ZADEH Z,KARIMI TORSHIZI M A,et al.Effect of the three herbal extracts on growth performance,immune system,blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens[J].Journal of Agricultural Science and Technology,2011,13(4):527–539.

[17] 胡刘岩.常见香辛料精油主要成分的抑菌效果及对冷鲜肉保鲜的研究[D].硕士学位论文.上海:上海师范大学,2012.

[18] 刘容珍,田允波.天然植物提取物对仔猪生长性能的影响及其作用机理研究[J].安徽农业科学,2007,35(16):4866–4868.

[19] 王继凤,陈耀星,王子旭,等.丁酸钠对断奶仔猪小肠黏膜形态结构的影响[J].中国兽医科技,2005,35(4):298–301.

[20] 王帆,杨静东,王春梅,等.复配植物源杀菌剂的开发研究[J].江西农业学报,2010,22(2):87–89.

[21] 李凯年.通过饲料添加剂减少肉鸡球虫卵囊的排泄[J].中国动物保健,2013,15(4):87.

[22] 齐胜利.生物活性物质对断奶仔猪胃肠道和生长性能的影响[J].国外畜牧学：猪与禽,2010,30(5):36–39.

[23] JERZSELE A,SZEKER K,CSIZINSZKY R,et al.Efficacy of protected sodium butyrate,a protected blend of essential oils,their combination,and *Bacillus amyloliquefaciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers[J].Poultry Science,2012,91(4):837–843.

Synergistic Bacteriostatic Effect of Plant Essential Oil and Sodium Butyrate *in Vitro*

HAN Qianjie[1] ZHANG Lingling[1] CHEN Min[2] LI Hui[2] FAN Xiaoyan[2] YANG Caimei[1,2*]

(1. *College of Animal Science and Technology*, *Zhejiang A&F University, Linan* 313000, *China*; *Zhejiang Wanfang Biological Technologies Inc, Anji* 313307, *China*)

Abstract: The objective of this study was to evaluate the synergistic bacteriostatic effect of pant essential oils and sodium butyrate *in vitro*. The bacteriostatic effects of three kinds of essential oils (cinnamaldehyde, thymol and vanillin) on *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* and *Lactobacillus* were measured by Oxford cup method. And the bacteriostatic effects of the mixture of singe plant/compound plant essential oils and sodium butyrate were also measured. The results showed as follows: three kinds of essential oils all had obviously inhibiting effects on *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Clostridium perfringens*, but had no inhibiting effects on *Lactobacillus*, and the bacteriostatic effects was cinnamaldehyde>vanillin>thymol in the same concentration. The bacteriostatic effect of compound plant essential oils of cinnamaldehyde and vanillin was better than single plant essential oil, and the mass ratio of cinnamaldehyde to vanillin=6:1 was the best one. Sodium butyrate showed no bacteriostatic effect, while the compound of sodium butyrate and essential oil could obviously reduce the consumption of plant essential oil. The results indicate that the different essential oils have synergistic effect. There is a synergistic effect between plant essential oil and sodium butyrate.

Key words: plant essential oil; sodium butyrate; synergistic bacteriostatic effect; MIC

---

*Corresponding author, associate professor, E-mail: yangcaimei2012@163.com (责任编辑　菅景颖)